



andreialuisvieira@gmail.com

EFEITO DO PERÓXIDO DE HIDROGÉNIO NA VIABILIDADE DE CÉLULAS OSTEABLÁSTICAS – ESTUDO PILOTO

63



Vieira A.¹, Marques J.², Cruz M.³, Mendonça C.⁴, Marques D.⁵, Mata A.⁶

1 – Médica Dentista, Colaboradora GIBBO-UICOB; 2 – Médico Dentista, Professora Auxiliar Convivada da FMDUL, Investigadora do GIBBO-UICOB 3 – Médico Dentista, Assistente Convivada da FMDUL, Investigadora do GIBBO-UICOB; 4- Aluna do Mestrado Integrado em FMDUL, Colaboradora GIBBO-UICOB; 5 – Médico Dentista, Professor Auxiliar da FMDUL, Coordenador do GIBBO-UICOB; 6 – Médico Dentista, Professor Catedrático da FMDUL, Diretor do GIBBO-UICOB

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

As técnicas de branqueamento interno constituem uma opção terapêutica conservadora para o tratamento das alterações de cor dentária em dentes não vitais⁽¹⁾.

O peróxido de hidrogénio introduzido na câmara pulpar em procedimentos de branqueamento interno, *in vitro*⁽²⁻⁵⁾, demonstra um potencial de difusão através dos tecidos duros do dente para o periodonto⁽⁶⁾, em concentrações que se situam num espectro entre 0,34 µg/ml e 4,4µg/ml (após 24 horas de exposição)⁽⁷⁾. São desconhecidos, contudo, quais os efeitos do peróxido de hidrogénio nas células periodontais, em particular nas células osteoblásticas.

O objetivo deste estudo piloto é avaliar os efeitos da exposição ao peróxido de hidrogénio potencialmente resultante de processos de difusão radicular após técnicas de branqueamento interno na viabilidade de uma linhagem de células osteoblásticas, avaliando especificamente o efeito do tempo de exposição e da concentração de peróxido de hidrogénio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas células osteoblásticas fetais humanas condicionalmente imortalizadas pelo gene SV40 - hFOB 1.19 (ATCC® CRL-11372). Estas foram cultivadas em placas de 96 poços (1,0x10⁴ células/poço), de acordo com as indicações da ATCC®, em meio de cultura composto por uma mistura de 1:1 de DMEM (Dulbecco's modified Eagle's médium) (Lonza®, Basileia, Suíça), Ham's F-12 suplementado com 2,5 nm de L-glutamina (Biowest®, Nuaillé, França), 0,3mg/ml de G418 (Roche®, Basileia, Suíça) e 10% de Soro Fetal Bovino (Biowest®, Nuaillé, França), e incubadas a 37°C, 5% CO₂ e humidade relativa de 97%.

As células foram expostas a soluções de peróxido de hidrogénio, feitas a partir de uma solução-mãe de 3% de peróxido de hidrogénio (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Missouri, EUA), num espectro de 6 pontos crescentes de concentração: 0,0 µg/ml (controlo), 0,5 µg/ml, 1,0 µg/ml, 2,5 µg/ml, 6,0 µg/ml e 15,0 µg/ml, durante 1 hora, 24 horas ou 72 horas (n=3). Após o tempo de incubação, avaliou-se a viabilidade celular através do kit CellTiter-Blue® (Promega Corporation®, Wisconsin, EUA) e os resultados medidos por espectrofluorimetria com um comprimento de onda 560/590 (excitação/emissão). Os valores de intensidade de fluorescência obtidos foram convertidos em percentagem de viabilidade considerando como referência o controlo negativo sem tratamento, aplicando a seguinte fórmula:

$$\% \text{ viabilidade} = \frac{\text{Intensidade Fluorescência poço teste}}{\text{média das intensidades de fluorescência controlo}} \times 100$$

A análise estatística foi realizada recorrendo a um software apropriado SPSS® - Statistics 23 (IBM® Inc, Chicago, IL, EUA), pelo teste ANOVA com teste Duncan ou Tukey post-hoc conforme apropriado usando o grupo de controlo como referência. Apenas foram considerados valores significativos para P < 0,005.

DISCUSSÃO

- A exposição ao peróxido de hidrogénio em todas as concentrações testadas resultou numa diminuição muito significativa da viabilidade celular osteoblástica em comparação com o controlo (p=0,000).
- Observou-se um efeito pouco pronunciado do aumento da concentração de peróxido de hidrogénio na viabilidade das células hFOB 1.19, verificando-se uma diminuição de 71,43% a 80,98% após exposição a concentrações de 0,5 µg/ml a 15,0 µg/ml, respetivamente. Contudo, entre concentrações não se observam resultados estatisticamente significativos. Estes resultados sugerem que concentrações inferiores a 0,5µg/ml poderão ter já efeitos na viabilidade destas células, sendo necessários mais estudos para validar esta hipótese.
- Quando considerado o tempo de exposição, foi observada uma diminuição crescente da viabilidade em função do aumento do tempo de exposição, variando de 39,07% (1h) até 12,01% (72h), demonstrando um efeito negativo do tempo de exposição na viabilidade celular para as mesmas concentrações. Estes resultados são significativas entre a 1 hora e as 72 horas (P=0,003).

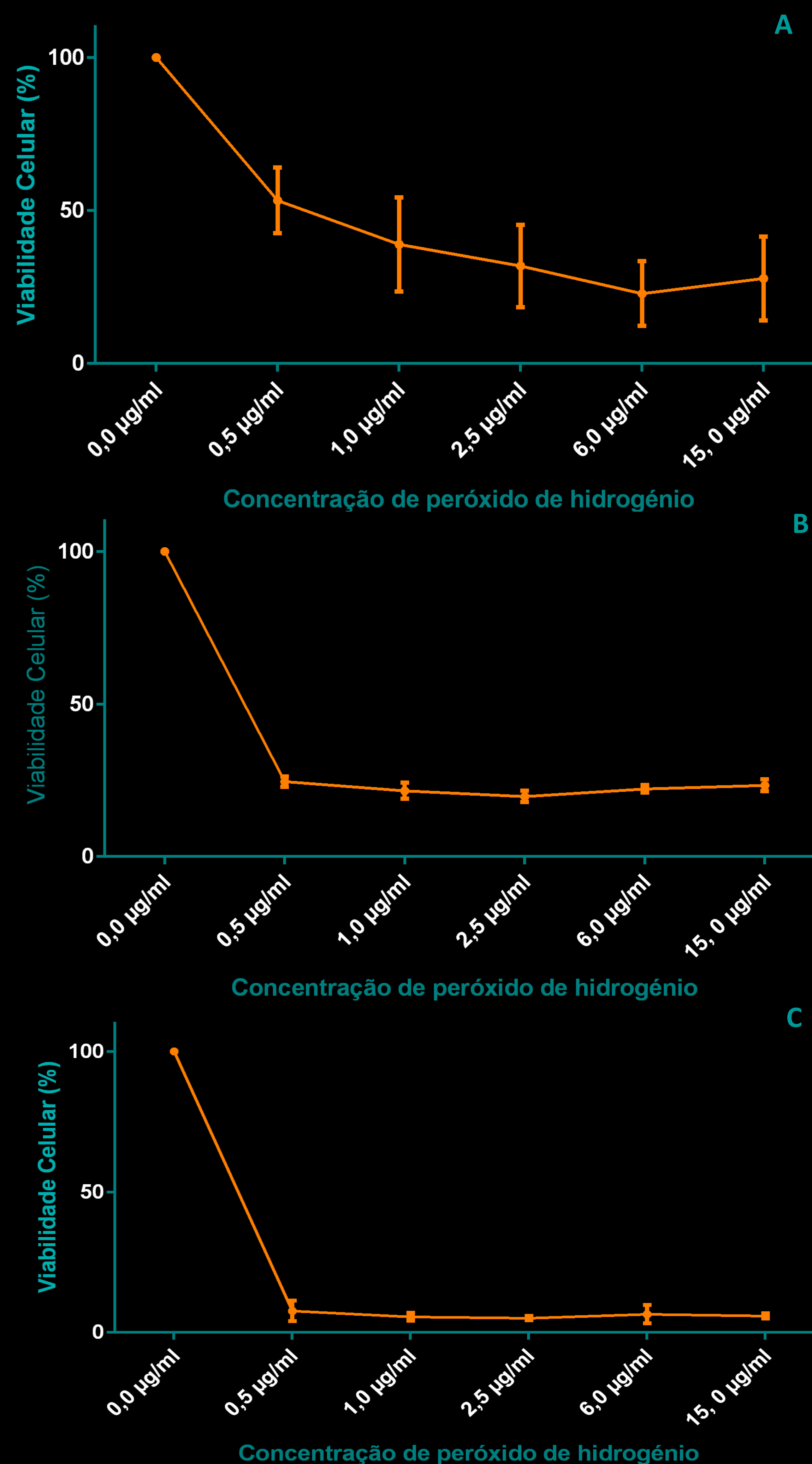
CONCLUSÃO

A exposição ao peróxido de hidrogénio nas concentrações potencialmente resultantes de difusão após procedimentos de branqueamento interno diminui significativamente a viabilidade de osteoblastos hFOB1.19 nos tempos de exposição testados. Serão necessários estudos complementares para a completa caracterização da curva de tempo e dose-resposta do peróxido de hidrogénio neste modelo celular.

REFERÊNCIAS

1- Dahl, J.E. & Pallesen, U., 2003. Tooth Bleaching--a Critical Review of the Biological Aspects. Critical Reviews in Oral Biology & Medicine, 14(4), pp.292-304. 2-Plotino, G. et al., 2008. Nonvital Tooth Bleaching : A Review of the Literature and Clinical Procedures Nonvital Tooth Bleaching : A Review of the Literature and Clinical Procedures. Journal of Endodontics, 34(4), pp.394-407. 3-Tredwin, C.J. et al., 2006. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. British dental journal, 200(7), pp.371-376. 4-Rokaya, M.E. et al., 2015. Evaluation of Extraradicular Diffusion of Hydrogen Peroxide during Intracoronal Bleaching Using Different Bleaching Agents. , 2015. 5-Palo, R.M. et al., 2012. Quantification of Peroxide Ion Passage in Dentin, Enamel, and Cementum After Internal Bleaching With Hydrogen Peroxide. , pp.660-664. 6- Alqahtani, M.O., 2014. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. Saudi Dental Journal, 26(2), pp.33-46. 7- Madhu, K.S. et al., 2013. Comparison of Radicular Peroxide Leakage from four Commonly used Bleaching agents following Intracoronal Bleaching in Endodontically treated teeth - An In Vitro Study.

RESULTADOS



Gráficos de linhas demonstrando a viabilidade celular de osteoblastos hFOB1.19 após a exposição a concentrações crescentes de peróxido de hidrogénio por comparação com controlo negativo (sem exposição).

Cada gráfico representa um tempo diferente de exposição às soluções de peróxido de hidrogénio (A: 1h, B:24h, C:72h). Os pontos referem-se a uma média aritmética de 3 ensaios. As barras de erro representam o intervalo de desvio padrão.